

BIODEGRADAÇÃO DE PLASTIFICANTES NA PRESENÇA DE CO-SUBSTRATOS EM UM SOLO TROPICAL ARENOSO

Ieda Domingues Ferreira¹, Dione Mari Morita²

1. RESUMO

Plastificantes podem ser definidos como aditivos de baixa volatilidade utilizados para aumentar a processabilidade e a flexibilidade ou diminuir a dureza de materiais poliméricos. Os ésteres de ácidos ftálicos e adípicos, utilizados como plastificantes, são caracterizados por sua baixa solubilidade em água, pelo alto coeficiente de partição octanol/água e tendem a se acumular no solo e sedimentos. São considerados potencialmente carcinogênicos e teratogênicos e interferentes endócrinos. Nesta pesquisa, procurou-se avaliar a biodegradação dos poluentes presentes em solos tropicais contaminados com resíduos de uma indústria de plastificantes, em reatores aeróbios, utilizando microrganismos indígenas e exógenos adaptados. Foram retirados 200 kg de solo para o ensaio de biodegradação e as amostras foram submetidas a análises físicas, químicas de acordo com a metodologia EPA, EMBRAPA e CETESB. Os teores iniciais de plastificantes nas amostras de solo variaram de 153 mg/kg para o DOA (menor valor) a 15552 mg/kg para o DIDP (maior valor). As eficiências de remoção de plastificantes no processo biológico foram acima de 70,4%, com crescimento bacteriano de 1 a 2 logs constatado através da contagem de bactérias heterotróficas.

2. ABSTRACT

Plasticizers are low volatility compounds that offer flexibility and processability to resins. The phthalates and adipates, used as plasticizers, have low water solubility and high partition octanol/water (K_{ow}) and accumulate in soil and sediments. These compounds are considered teratogenic, carcinogenic and endocrine disruptor chemicals. This study evaluated the bioremediation of tropical soil contaminated with plasticizers process wastes, in aerobic conditions, with and without introduction of acclimated bacteria. It was selected 200kg soil for the biodegradation study. Mineralogical, physical and chemical analysis were done according to EPA, CETESB and EMBRAPA. The plasticizers contents in soil were 153 mgDOA/kg up to 15552 mgDIDP/kg and after 90 days of biodegradation the lower removal efficiencies were 70.4% with a 1-2 log simultaneous bacterial growth.

Palavras-chave: Bioremediação. Biodegradação ambiental. Plastificantes. Solo tropical.

3. INTRODUÇÃO

Plastificantes podem ser definidos como aditivos de baixa volatilidade utilizados para aumentar a processabilidade e a flexibilidade ou diminuir a dureza de materiais poliméricos (Brown et al., 1996)[1]. Os ésteres de ácidos ftálicos e adípicos, utilizados como plastificantes, são caracterizados por sua baixa solubilidade em água e pelo alto coeficiente de partição octanol/água e tendem a se acumular no solo e sedimentos. São utilizados como importantes aditivos às resinas de policloreto de vinila (PVC) e outras, como acetato de polivinila, poliuretano e resinas celulósicas. São também empregados na produção de repelentes de insetos, fibras sintéticas e cosméticos (ATSDR, 2002)[2].

Os ftalatos de alto peso molecular são considerados potencialmente carcinogênicos e teratogênicos e causam danos ao fígado, rins e órgãos reprodutivos, bem como disfunções endócrinas. A população em geral é exposta aos ftalatos através dos alimentos, água e ar, sendo as principais vias de contaminação, a ingestão e a inalação. Nos alimentos industrializados, os ftalatos podem estar presentes devido a contaminações durante o processo produtivo, em função dos tipos de equipamentos utilizados ou às próprias embalagens, sendo acentuadas em alimentos industriais gordurosos. Meek&Chan (1994)[3] estimaram a exposição da população do Canadá aos ftalatos, em função da faixa etária, e verificaram que as crianças de 6 meses a 11 anos estavam mais susceptíveis à exposição alimentar. As mulheres se constituem em outro segmento bastante exposto, por conta do uso de cosméticos e fibras sintéticas. Um grupo que sofre especial impacto dos ftalatos compreende a população submetida a procedimentos médicos específicos. Em adultos, submetidos a 156 sessões de hemodiálise/ano e massa corporal média de 70 kg, esta taxa corresponde a 640 µg/kg massa corpórea/dia (NTP CENTER, 2002)[4].

As perdas de ftalatos para o meio ambiente podem ocorrer durante a manufatura, distribuição, uso e disposição final dos plastificantes e de produtos plastificados. Devido à utilização global dos plásticos, os ftalatos têm sido detectados em diversos meios, sendo as maiores concentrações encontradas em áreas adjacentes às indústrias produtoras de ftalatos ou indústrias de processamento de plásticos

4. OBJETIVO

Verificar a biodegradação dos álcoois e plastificantes, presentes no solo contaminado de uma indústria de plastificantes, por meio de bactérias indígenas e exógenas adaptadas.

5. MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa compreendeu a avaliação da biodegradação dos plastificantes presentes em um solo contaminado com resíduos da produção de uma unidade industrial, em reatores aeróbios. Foram utilizados microrganismos indígenas e exógenos adaptados, sendo estes últimos retirados da Estação de Tratamento de Águas Residuárias desta indústria. Foram avaliados os plastificantes: DIBP (Di-isobutilftalato), DBP (Dibutilftalato), DEHP (Bis-2-etilhexilftalato), DIDP (Di-isodecilftalato), DIAP (Di-isoamilftalato), DOA (dioctiladipato) e os alcoóis isobutanol, butanol, isoamílico, 2-etilhexanol e isodecanol.

Coleta de amostras do solo da área de plastificantes

Para os ensaios de biodegradação e determinações físico-químicas e geotécnicas, foram retiradas amostras de solo (200 kg) na profundidade de 1,0 m a partir do nível do piso industrial. Foi aberta uma cava nas dimensões 50x50x100cm (largura x comprimento x profundidade), sendo identificados água e óleo no local (Figura 1).



Figura 1 – Local de coleta de amostra para os ensaios de biodegradação

Caracterização do solo utilizado na biodegradação

Para a caracterização físico-química do solo contaminado, as amostras, após homogeneização, foram separadas em triplicatas, na quantidade de 1 kg cada, sendo determinados os parâmetros pH (H₂O), pH(KCl), Alumínio, Matéria Orgânica, P Total, N Total, Na, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn, Zn, soma das bases, T e V, utilizando os métodos do Instituto Agrônomo de Campinas (2001)[5] e da Embrapa (1999)[6].

Aproximadamente 6 kg de solo homogeneizado foram distribuídos em duas bandejas de aço inox (AISI 304), isentas de contaminações, para secagem à temperatura ambiente, durante 4 dias. Tais procedimentos foram efetuados em laboratório, sob capela. Eventuais torrões, formados durante o período de secagem, foram desagregados. Posteriormente, o solo foi peneirado em malha com diâmetro de 2,0 mm. Esta amostra foi denominada Branco 1. O restante das amostras de solo retiradas foram denominadas Branco 2.

A caracterização geotécnica e mineralógica do solo contaminado foi efetuada na amostra de solo Branco 1, sendo segregados 500g para a determinação da composição mineralógica e 100g, para a análise granulométrica. A composição mineralógica foi determinada através de difratometria de raios-X e fluorescência de raios-X. O procedimento da difratometria de raios-X, método do pó, consistiu no quarteamento da amostra de solo, obtendo-se uma porção de aproximadamente 20 g e posterior redução granulométrica, utilizando peneira “mesh” 200; a amostra resultante (alíquota de 1 a 3 g) foi compactada sobre a cavidade de um suporte metálico (27 mm de diâmetro por 2,5 mm de profundidade) e introduzido no equipamento de difratometria de raios-x, marca PANanalytical, modelo Xpert PRO com detector XCelerator. O procedimento da determinação analítica utilizando a fluorescência de raios-x consistiu no quarteamento da amostra de solo, obtendo-se aproximadamente 50 g e posterior redução granulométrica, utilizando peneira “mesh” 400; a amostra resultante foi compactada em prensa de 20 t e introduzida no equipamento de fluorescência de raios-x, marca PANanalytical, modelo AXIOS Advanced. A análise granulométrica foi efetuada pelo método da pipeta, em triplicatas, conforme o procedimento do Manual de Métodos de Análises de Solo (Embrapa,1999).

As determinações relativas à densidade aparente, umidade residual, capacidade de campo e pH foram realizadas utilizando a amostra de solo seco e peneirado em malha com diâmetro de 2,0 mm, amostra Branco 1, de acordo com a Norma CETESB L6.350 (CETESB, 1990)[7], sendo os ensaios efetuados em triplicata.

A determinação da densidade de bactérias heterotróficas no solo foi efetuada de acordo com a Norma CETESB L5.201 (CETESB, 1996)[8], utilizando o meio R2A e a técnica *Pour-plate*.

As determinações dos teores de plastificantes presentes nas amostras do solo foram efetuadas por cromatografia gasosa de acordo com o método 8061A da EPA (EPA, 1996)[9] e a extração destes plastificantes foi realizada de acordo com o método 3540 da EPA (EPA,1996).

Amostragem e caracterização do inóculo

O inóculo utilizado para o teste de biodegradação dos poluentes do solo foi o lodo da estação de tratamento de águas residuárias da unidade industrial de plastificantes. As amostras de inóculo foram coletadas em recipientes de vidro (1 Litro) e posteriormente preservadas a temperatura de 4°C até seu uso.

Para caracterização do inóculo, foram determinados os seguintes parâmetros: pH, Temperatura, Série de Sólidos, nitrogênio e fósforo, conforme os procedimentos descritos

no APHA, AWWA, WEF (1998)][10]. A contagem de bactérias heterotróficas foi realizada pelo método “pour-plate”, utilizando meio de cultura R2A. As concentrações dos plastificantes e álcoois foram determinadas por cromatografia gasosa, seguindo o método da EPA 8061A (EPA,1996) e a extração, de acordo com o método 3540 da EPA(EPA,1996).

Ensaio de Biodegradação

Os ensaios de biodegradação do solo foram conduzidos em copos Griffin, durante 90 dias, à temperatura ambiente. Os frascos permaneceram fechados com papel alumínio e foram abertos uma vez por semana para homogeneização manual, durante todo o período do processo, nas retiradas de amostras. Foram realizados ensaios utilizando amostras de solo Branco 1 (Ensaio I) e Branco 2 (Ensaio II), com microrganismos indígenas ou indígenas e exógenos adaptados.

Ensaio I - Os Frascos B1, 1, 2, 3 e 4 foram preenchidos inicialmente com 250g de solo Branco 1. Frasco B1 (Branco 1): solo Branco 1. Frasco 1: A umidade inicial do solo foi ajustada para 50% através da adição de água destilada. Frasco 2: Foram adicionados 135mg/kg solo de nitrogênio (N-NH₄Cl) e 30mg/kg solo de fósforo (P-KH₂PO₄); a umidade inicial do solo foi ajustada para 50% com adição de água destilada. Frasco 3: Foram adicionados 50% em volume de inóculo; a umidade do solo foi ajustada para 50% através da adição de água destilada. Frasco 4: Foram adicionados 50% em volume de inóculo, 135mg/kg solo de nitrogênio (N-NH₄Cl) e 30mg/kg solo de fósforo (P-KH₂PO₄); a umidade inicial do solo foi ajustada para 50% com adição de água destilada.

Ensaio II - Os Frascos B2, 5, 6, 7 e 8 foram preenchidos inicialmente com 250g de solo Branco 2. Frasco B2 (Branco 2): solo Branco 2. Frasco 5: Foram adicionados 50% em volume de inóculo; a umidade inicial do solo foi ajustada para 50% através da adição de água destilada. Frasco 6: Foram adicionados 50% em volume de inóculo, 170mg/kg solo de nitrogênio (N-NH₄Cl) e 37mg/kg solo de fósforo (P-KH₂PO₄); a umidade inicial do solo foi ajustada para 50% com adição de água destilada. Frasco 7: Foram adicionados 170mg/kg solo de nitrogênio (N-NH₄Cl) e 37mg/kg solo de fósforo (P-KH₂PO₄); a umidade inicial do solo foi ajustada para 50% com adição de água destilada. Frasco 8: A umidade inicial do solo foi ajustada para 50% através da adição de água destilada.

Monitoramento do processo de biodegradação

Semanalmente, foram determinados a temperatura e o pH de acordo com os procedimentos do Manual de Métodos de Análises do Solo (Embrapa,1999). Após 30, 60 e 90 dias, foram retiradas amostras do solo dos frascos para determinação dos teores dos plastificantes e álcoois. As amostras foram analisadas por cromatografia gasosa seguindo

o método da EPA 8061A (EPA,1996). A extração foi realizada de acordo com o método 3540 da EPA (EPA,1996). A contagem das bactérias heterotróficas foi feita segundo o método “pour plate”, de acordo com a Norma CETESB L5.201 (CETESB, 1996).

6. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Caracterização do solo da área de plastificantes

A área onde está localizada a indústria petroquímica é formada por rochas pré-cambrianas, constituídas de granitos e granodioritos, em parte gnaíssicos, micaxistos e meta-arenitos, bem como xistos miloníticos, encontrados em zona de movimentação tectônica. Abrange sedimentos geológicos terciários, constituídos por argilas, areias e cascalhos da Formação São Paulo e sedimentos aluvionares quaternários. Conforme o Mapa Pedológico do Estado de São Paulo (IBGE, 2005)[11], o solo da região é um Cambissolo Háplico.

A unidade industrial, de onde foram coletadas as amostras utilizadas neste estudo, está assentada sobre um aterro espesso, constituído de material retirado do entorno. A análise estratigráfica nos poços de monitoramento existentes, detectou uma composição variada: camadas de material pedológico (cambissolos, organossolos, gleissolos), entremeadas com alteritas do pré-cambriano e areias do terciário e quaternário.

Composição mineralógica do solo.

As análises por difratometria de raios x da amostra de solo Branco 1 mostraram que o solo é constituído por caulinita ($\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5$), gibsita ($\text{Al}(\text{OH})_3$), muscovita($\text{KAl}_2(\text{Si}_3\text{Al})\text{O}_{10}(\text{OH},\text{F})_2$) e quartzo(SiO_2). Os resultados das análises semiquantitativas de espectrometria por fluorescência de raios x, expressos em percentual de óxidos estão na Tabela 1.

Tabela 1 – Resultados dos ensaios por fluorescência de raios X da amostra de solo Branco 1

Óxidos	%	Óxidos	%	Óxidos	%
Na_2O	0,29	TiO_2	1,71	Rb_2O	0,01
MgO	0,21	V_2O_5	0,02	SrO	-
Al_2O_3	31,90	Cr_2O_3	-	Y_2O_3	0,01
SiO_2	53,50	MnO	0,02	ZrO_2	0,07
P_2O_5	0,05	Fe_2O_3	2,24	BaO	0,04
SO_3	0,09	ZnO	-	WO_3	0,03
K_2O	2,74	Ga_2O_3	-	PbO	0,01
Ca O	0,26	-			

Os maiores percentuais de óxidos encontrados foram para a SiO_2 (53,5%) e Al_2O_3 (31,9%), sendo os teores de ferro baixos (2,24%). Verificando os parâmetros K_i e K_r ,

referentes ao grau de intemperismo do solo, tem-se K_i correspondente a 2,85 demonstrando o domínio nas frações de argilas dos minerais dos tipos 1:1 e 2:1 e o K_r correspondente a 2,73, demonstrando tratar-se de um solo caulínítico.

As análises granulométricas do solo obtidos em relação a 20g do solo Branco 1 com 7,6% de umidade, identificaram as frações (médias de triplicatas) correspondentes a 1,5 % de argila, 31,9% de silte e 66,6% de areia total, sendo este classificado como arenoso, o que corrobora com os resultados obtidos pela fluorescência de raios X, que mostra que os maiores percentuais são de óxidos de silício. As relações silte/argila conseqüentemente foram elevadas e correspondentes a 21.

As deteminações físico-químicas realizadas nas amostras de solo Branco 2 estão apresentados na Tabela 2. Os valores de pH do solo em água (6,5 a 6,6) estão ligeiramente acima daqueles encontrados em KCl (6,1 a 6,2) demonstrando que o solo apresenta carga líquida negativa. Os valores elevados encontrados para a capacidade de troca catiônica deste solo, entre 59,6 e 78,7mmol/kg e os valores de V acima de 96% não foram condizentes com os demais resultados, demonstrando que a troca de cargas é advinda possivelmente dos contaminantes.

Tabela 2 – Caracterização físico-química do solo para fins de levantamento

	pH		M.O.	C*	SB	T	V
	H ₂ O	KCl	g/kg	g/kg	mmol/kg	mmol/kg	%
Triplicatas							
I	6,5	6,1	14	8,1	75,7	78,7	96
II	6,6	6,2	18	10,4	56,6	59,6	96
III	6,5	6,1	16	9,3	75,5	77,5	97
	Na	K	Ca	Mg	Al	Al+H	Ntotal
Triplicatas	mmol/kg	mmol/kg	mmol/kg	mmol/kg	mmol/kg	mmol/kg	mg/kg
I		2,7	69	4	0	3	265
II		2,6	50	4	0	3	265
III		2,5	69	4	0	2	265
	P Total	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
Triplicatas	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	MG/kg	mg/kg
I	3	51	0,35	0,3	37	2	0,5
II	2	49	0,35	0,4	35	2	0,8
III	2	47	0,35	0,4	36	1,9	0,6

Os teores de Carbono Orgânico do solo estão entre 0,81 a 1,04%, sendo considerados baixos para solos tropicais (Fassbender,1975)[12]. Os baixos teores de ferro (35 a 37mg/kg) corroboram com os resultados encontrados por espectrometria de fluorescência de raio x. Os teores de micronutrientes (K, Ca, Mg) variaram entre 2,5 a 2,7 mmol/kg para o potássio, de 50 a 69 mmol/kg para o cálcio e 4,0 mmol/kg para o

magnésio. Os teores de Nitrogênio Total foram de 265mg/kg e de Fósforo Total entre 2 e 3 mg/kg, estando as relações carbono/nitrogênio (C/N) entre 31 a 39 e carbono/fósforo (C/P) entre 2700 a 5200. Considerando as relações C/N 60:1 e C/P 300:1 recomendadas pela CETESB para a biodegradação de compostos orgânicos no solo, seria necessária a adição de fósforo para a manutenção da atividade dos microrganismos indígenas e a biodegradação dos contaminantes, nestas condições.

Densidade aparente, umidade residual, capacidade de campo e pH

Os valores de umidade residual das amostras, em triplicatas, do solo Branco 1, após preparação e secagem por 4 dias, foram 7,19%, 7,34% e 8,25%, de densidade foram 1,14, 1,15 e 1,24 g/cm³, de capacidade de campo foram 37%, 38% e 39% e faixa de variação de pH foi de 5,6 a 5,8. Para o solo Branco 2, as amostras em triplicatas apresentaram umidade 26,5%; 26,6%; 26,9% e densidade 1,46; 1,48; 1,50 g/cm³, estas determinações foram realizadas sem peneiramento da amostra pois a mesma apresentava-se extremamente plastificada e oleosa.

Após a determinação dos parâmetros físico-químicos, foram calculadas as quantidades de água, nutrientes e lodo a serem introduzidas em cada processo e a umidade inicial do solo foi corrigida para 50%, após a adição de lodo, correspondente em média a 10gSSV/kg solo. Foram preparadas soluções contendo 24g NH₄Cl/L e 6gKH₂PO₄/L, sendo adicionados 5mL de cada solução nos frascos 2, 4, 6 e 7. Após a montagem de todos os Frascos foram determinados a temperatura dentro de cada frasco e o pH inicial do solo em cada processo.

Caracterização química do solo

Os menores e maiores teores de plastificantes encontrados na amostra de solo Branco1 foram de 178 mg/kg(DOA) e 15552mg/kg (DIDP) e na amostra de solo Branco 2, foram de 153 mg/kg(DOA) e 11360mg/kg(DIDP).

Caracterização microbiológica do solo

A densidade de bactérias para a amostra Branco 1 foi 9,0x10³, 8,0x10³ e 4,0x10³ UFC/g e para a amostra Branco 2 foi 7,0x10⁶, 1,2x10⁷ e 4,0x10⁶ UFC/g. Foram consideradas apenas as placas onde o número de pontos representando unidades formadoras de colônias (UFC) estava entre 30 e 300, em diluições consecutivas.

Amostragem e caracterização do inóculo

A faixa de variação do pH foi de 6,81 a 6,83, temperatura 29,5°C e densidade 0,986 a 0,990 g/cm³. As densidades de bactérias heterotróficas no inóculo foram de 1,72x10⁸ UFC/mL, 2,2x10⁸ UFC/mL e 2,5x10⁸ UFC/mL. Os teores de Carbono Orgânico Total foram de 13600 a 14100mg/kg, Nitrogênio Total Kjeldahl de 1868 a 1887mg/kg e Fósforo

Total de 204 a 207mg/kg. Os teores de plastificantes variaram de 2mgDIAP/L a 51mgDIDP/L.

Monitoramento do Ensaio de biodegradação

Acompanhando a evolução do pH durante todo o período monitorado, pôde-se observar que todos os processos, com exceção dos correspondentes aos Brancos 1 e 2, apresentaram um aumento de pH nos 30 dias iniciais, com a tendência à elevação do pH após este período nos frascos que receberam bactérias exógenas e com tendência a decréscimo do pH nos frascos contendo apenas as bactérias indígenas. No Ensaio I, a faixa de pH inicial foi de 5,5 a 5,7 e a final de 5,1 a 5,5 nos Frascos 1 e 2. No Ensaio II este parâmetro esteve entre 5,5 e 5,6 no início dos ensaios e no final, entre 4,8 e 5,3 nos Frascos 7 e 8. No Ensaio I, a biodegradação ocorreu no Frasco 3 na faixa de pH de 5,5 a 6,7 e no Frasco 4, na faixa de pH de 5,9 a 6,5. No Ensaio II, a biodegradação ocorreu no Frasco 5 na faixa de pH 6,0 a 6,8 e no Frasco 6, em pH entre 5,5 a 6,8. A diminuição de pH esperada, devido a degradação dos diésteres e formação de ácidos ftálicos (Staples et al, 1997; Juneson et al, 2001)[13],[14], não foi observada (Frascos 3, 4, 5 e 6).

A temperatura inicial dos processos no Ensaio I foi de 29°C e no Ensaio II 28°C, sendo o menor valor 17°C, após 60 dias, para os dois Ensaios.

Chang et al. (2004)[15] identificaram como condições ótimas para a biodegradação de oito ftalatos: pH igual a 7,0 e temperatura de 30 °C . Carrara (2003)[16] verificou a biorremediação de 100 mg/kg de DEHP no solo por microrganismos indígenas e exógenos adaptados, com remoções de 98,83%, em faixa de pH em água entre 7,20 e 7,97 e temperaturas entre 24 °C e 27 °C. No presente estudo, as temperaturas foram mais baixas (17 a 29 °C) e os valores de pH diferentes (5,5 a 6,8) dos pesquisados pelos autores mencionados anteriormente, no entanto, estas condições não se mostraram restritivas à biodegradação dos plastificantes, conforme remoções demonstradas nos parágrafos seguintes. Segundo a EPA (1995)[17], a maioria das bactérias desempenham melhor suas atividades na faixa de pH 5 a 9, embora diferentes espécies apresentem valores diferentes do pH ótimo para o seu crescimento. Ainda, segundo esta referência, a temperatura ótima de crescimento das bactérias em um determinado solo depende do clima da região.

Monitorando a umidade durante o período observou-se que a inicial efetiva não correspondeu à teórica esperada (50%) com a adição de água, lodo e solução de nutrientes, estando abaixo em todos os frascos. A água adicionada pode ter participado de reações de hidrólise dos diésteres carboxílicos. A plastificação do solo, que dificultou a homogeneização inicial, também pode ter contribuído para as diferenças encontradas A

umidade inicial variou de 34 a 45% para todos os frascos e a final, de 20 a 27%. Após 90 dias, a umidade final estava abaixo da capacidade de campo do solo.

Remoções dos contaminantes e densidade de bactérias heterotróficas

O Frasco 1, o qual recebeu apenas adição de água, não apresentou crescimento bacteriano, no entanto remoções superiores a 94% foram observadas para todos os compostos, após 90 dias. O Frasco 2, que recebeu adição de água e nutrientes, apresentou crescimento bacteriano de 1 log, após 90 dias e remoções de plastificantes foram acima 98% e de álcoois, acima de 91%. As elevadas remoções de contaminantes foram observadas a partir de 30 dias, sugerem que além da biodegradação pelos microrganismos indígenas outros mecanismos de remoção podem ter ocorrido, tais como a hidrólise dos plastificantes DEHP e DIDP. O Frasco 3, o qual recebeu água e 50% v/v de inóculo, e Frasco 4, que recebeu água, 50% v/v de inóculo e nutrientes apresentaram crescimento bacteriano de 1 log após 60 dias. Exceto o 2-etil-hexanol e o DOA inicialmente presentes no solo, nenhum dos demais compostos foi totalmente removido, sendo as remoções médias de plastificantes iguais a 97,3% no Frasco 3 e a 97% no Frasco 4, após 90 dias. Os menores teores finais de plastificantes foram 4 mgDIBP/kg e 2 mgDBP/kg e os maiores teores 687 mgDIDP/kg e 311 mgDIDP/kg, nos Frascos 3 e 4 respectivamente. O Frasco 5, o qual recebeu água e 50% v/v de inóculo, apresentou crescimento de 1 log após 60 dias e de 2 logs após 90 dias, porém a ordem de grandeza da densidade de colônias iniciais (10^7) estava abaixo de 1 log em relação aos demais processos nos quais foi adicionado o lodo (10^8). As remoções foram superiores a 70,4% para os plastificantes e 91% para os álcoois, após 90 dias. A amostra do Frasco 6, que recebeu água, 50% v/v de inóculo e nutrientes, apresentou crescimento bacteriano da ordem de 1 log após 90 dias e as remoções foram superiores a 82,6% para os plastificantes e 97% para os álcoois. Os menores teores finais de plastificantes foram 9 mgDBP/kg e 6 mgDBP/kg e os maiores teores 3113 mgDIDP/kg e 1828 mgDIDP/kg, nos Frascos 5 e 6, respectivamente. A amostra do Frasco 7, que recebeu adição de nutrientes, não apresentou crescimento bacteriano, após 90 dias. As eficiências de remoção foram superiores a 47,3% para os plastificantes e 64,4% para os álcoois. A amostra do Frasco 8, que recebeu adição de água, apresentou diminuição da ordem de 1 log, após 90 dias. As eficiências de remoção foram superiores a 72,2% para os plastificantes e de 94,4% para os álcoois.

As remoções de contaminantes sem o respectivo aumento na densidade de bactérias (Fracos 1, 7 e 8) pode ser explicado pela não seletividade da contagem de bactérias heterotróficas, por co-metabolismo ou ainda pelo fato de que os teores iniciais

considerados foram os do solo Branco 1 e 2, respectivamente, e não aqueles efetivamente presentes no Frasco no instante inicial, após adição de água.

Na contagem de bactérias heterotróficas foram detectados valores entre 30 e 300 colônias em diferentes diluições das amostras de solo para o mesmo frasco. A repetibilidade entre as triplicatas também não foi observada. As propriedades dos contaminantes (altamente adsorvidos no solo), aliadas às características geotécnicas do solo arenoso e idade da contaminação, podem ter sido fatores interferentes para a aplicação da metodologia, justificando a não repetibilidade entre triplicatas, bem como a divergência de resultados em função do aumento das diluições das amostras.

Conforme resultados obtidos nos Frascos 3, 4, 5 e 6 pode-se observar que a introdução de inóculo e nutrientes foi essencial a biodegradação de álcoois e plastificantes.

Equações cinéticas de biodegradação

Os teores de contaminantes na lama inicial, equação cinética, constantes de biodegradação e coeficientes de correlação na biodegradação pelas bactérias indígenas e exógenas adaptadas nos Frascos 3, 4, 5 e 6 estão mostrados nas Figuras 2 a 29. Os resultados obtidos indicam que a biodegradação dos álcoois e plastificantes seguiu uma cinética de primeira ordem. Zeng et al. (2004)[18] verificaram que a biodegradação dos seis PAE's pelas bactérias *Pseudomonas Fluorescences FS1* seguia uma cinética de primeira-ordem. A cinética de degradação para um determinado composto foi diferente nos diversos Frascos, sugerindo que a degradação deste variou com a presença dos demais compostos. Neste estudo, entretanto, não foi observado necessariamente a diminuição da constante de biodegradação em função do aumento dos teores iniciais de plastificantes, conforme observado por Zeng et al.(2004), bem como não foi observado uma diminuição na constante de degradação dos ftalatos em função do aumento e ramificação da cadeia alquílica, em um mesmo reator. Por outro lado, os álcoois, por serem co-substratos de cadeias mais simples que os plastificantes, não foram degradados mais rapidamente, mesmo estando presentes em todos os Frascos.

Considerando apenas os valores de k para o DEHP nos diversos Frascos, para atingir o valor de 10mg DEHP/kg solo recomendado pela CETESB para solo industrial, seriam necessários 238 dias no Frasco 3, 104 dias no Frasco 4, 329 dias no Frasco 5 e 286 dias no Frasco 6.

7. Conclusões

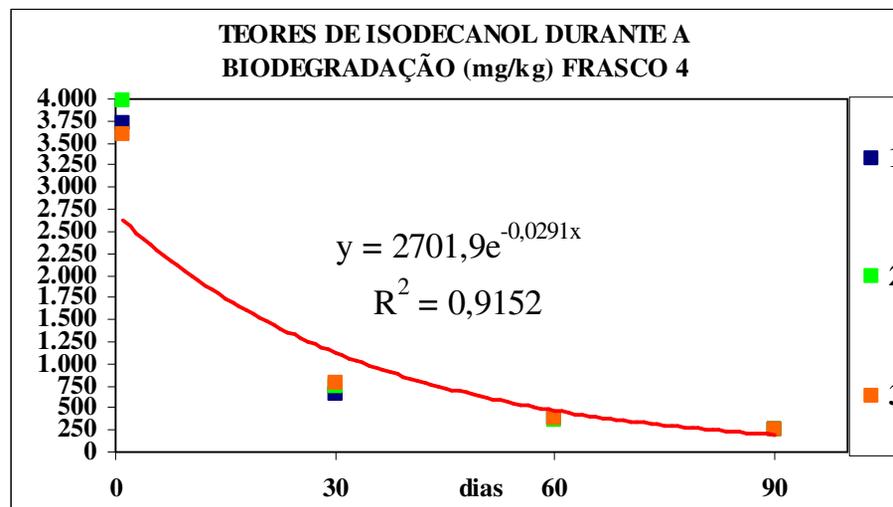
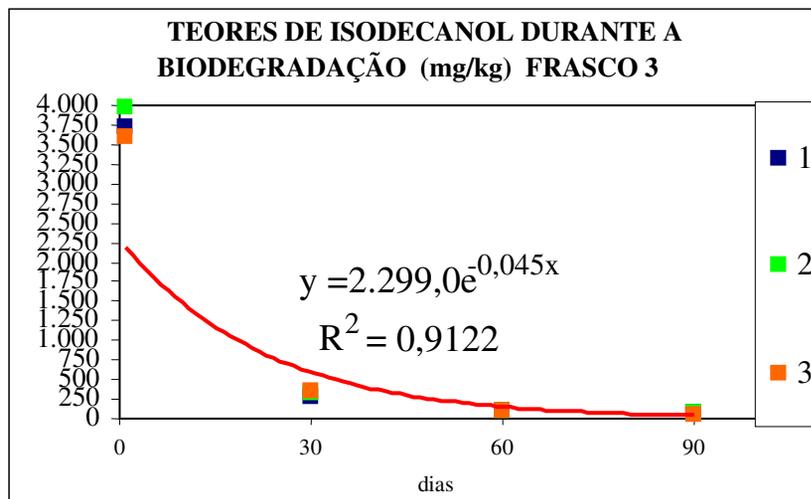
Dos resultados obtidos, pode-se considerar que:

- Não foi necessário o ajuste do pH do solo para a biodegradação dos álcoois e plastificantes; não sendo portanto recomendada a Norma CETESB L.6350 para preparação do solo na biodegradação. A densidade de bactérias heterotróficas não foi um bom indicador da biodegradação no solo, não sendo recomendada a adaptação da Norma CETESB L5.201. As melhores remoções de plastificantes e álcoois por biodegradação foram obtidas com a adição de inóculo adaptado (lodo), proveniente do conteúdo do tanque de aeração do sistema de lodos ativados que trata as águas residuárias da indústria. A presença dos álcoois (co-substratos) e de plastificantes de menor cadeia alquílica não impediu a biodegradação dos plastificantes de cadeia alquílica longa e ramificada: o DEHP e DIDP. O declínio de pH na biodegradação de plastificantes não foi observado nestes Ensaio.
- Em pH entre 5,5 a 6,8, temperatura de 17 a 29°C, umidade inicial de 35 a 45 %, adição de 9 a 11 gSSV/kg de solo, relações carbono:nitrogênio e carbono:fósforo de 60:1 e 300:1, respectivamente, foram obtidas remoções superiores a 70,4 % de plastificantes, após 90 dias, sendo que os teores iniciais variaram de 153 mgDOA/kg a 15552 mgDIDP/kg. Os teores finais para o DEHP, após 90 dias, variaram de 85 a 870 mgDEHP/kg solo, sendo necessários de 124 a 329 dias para atingir os 10mg DEHP/kg solo industrial recomendados pela CETESB. Os teores finais de DIDP foram de 311 a 3113 mg DIDP/kg, após 90 dias, no entanto, este último não consta na lista de valores de referência da CETESB, recomendando-se a inclusão deste composto, uma vez que as indústrias estão substituindo o DEHP pelo DIDP, no processo produtivo.

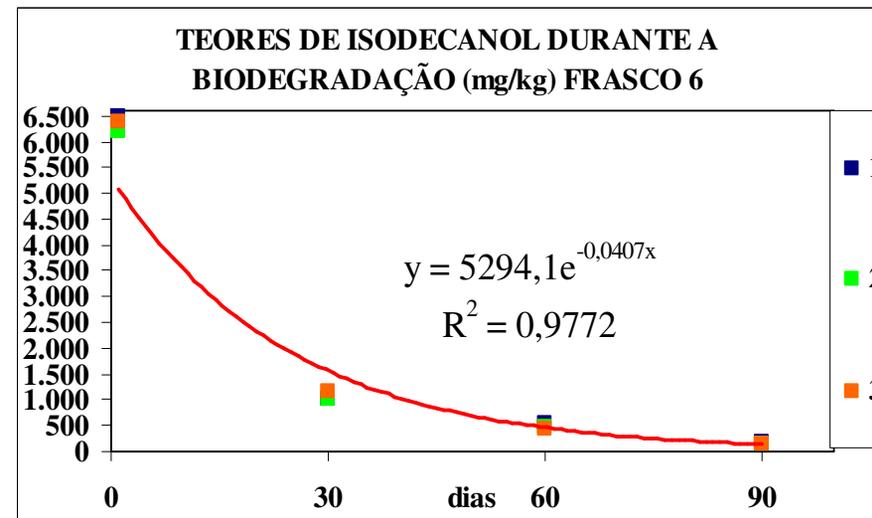
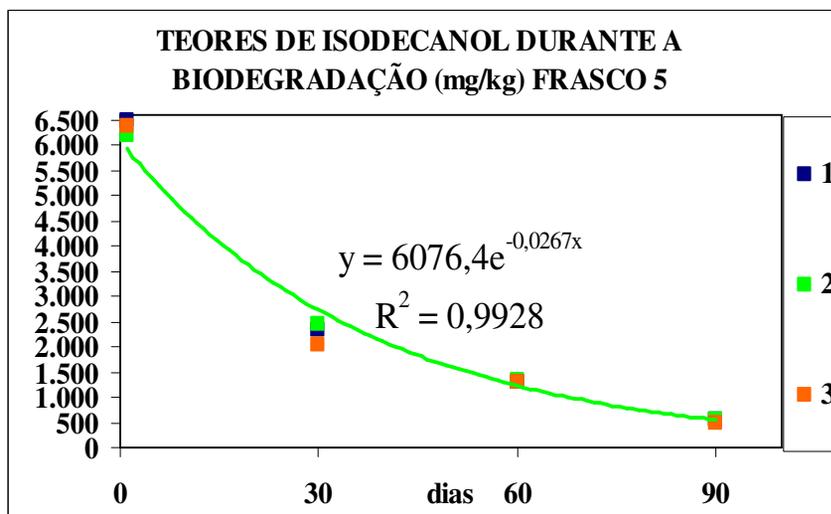
8. Referências Bibliográficas

- [1] Brown, D.; Thompson, R.S.; Stewart, K.M.; Croudace, C.; Gillings, E. The effect of phthalate ester plasticisers on the emergence of midge (*Chironomus riparius*) from treated sediments. *Chemosphere*, v. 32, n. 11, p. 2177-2187, 1996.
- [2] U. S. Department of Health and Human Services – Agency for Toxic Substances and Disease Registry (atsdr). Toxicological profile for di(2-ethylhexil)phthalate. Sept, 2002.
- [3] Meek, M.E.; Chan, P.K.I. Bis(2-ethylhexil)phthalate: evaluation of risks to health from environmental exposure in Canada. *J Environ Science Health Part C*, v. 12, p. 179-194, 1994.
- [4] NTP Center for the evaluation of risks to human reproduction: phthalates expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of di(2-etylhexyl)phthalate. *Reproductive Toxicology*, v.16, p. 529-653, 2002.

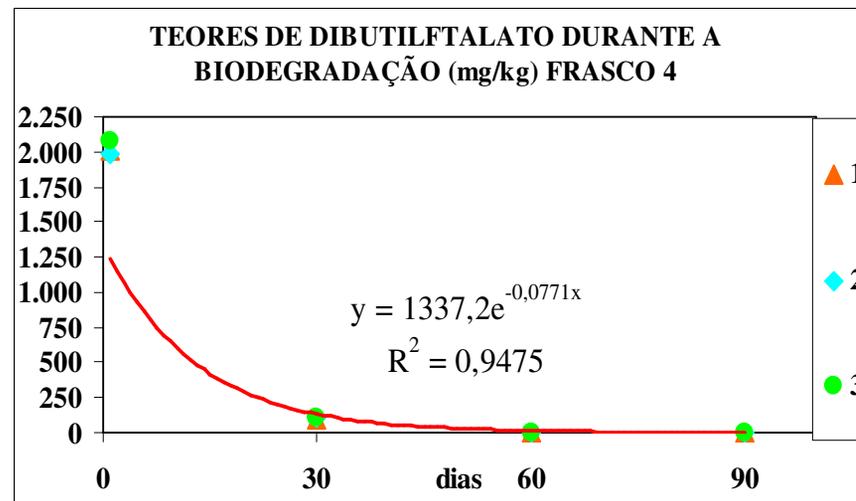
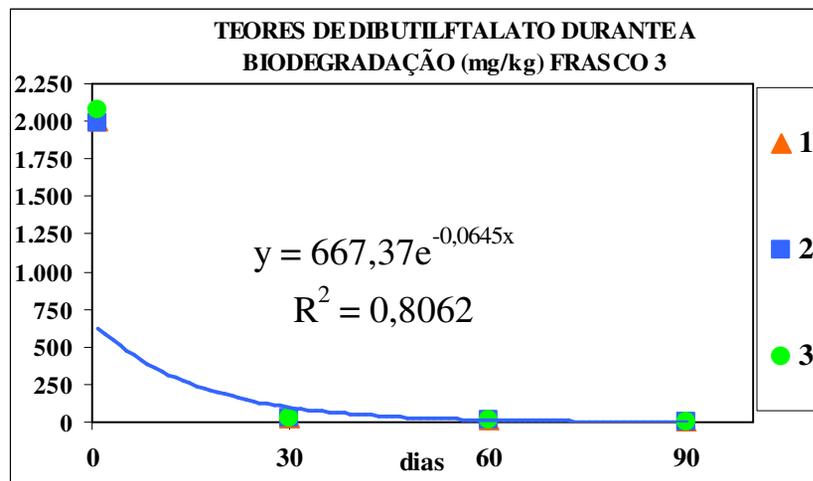
- [5] Instituto Agronômico de Campinas. Análises químicas para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Campinas, Instituto Agronômico, 2001. 285p.
- [6] Embrapa – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Brasília: Embrapa comunicação para transferência de tecnologia, 1999. 370p.
- [7] e [8] Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo. (CETESB). Determinação da biodegradação de resíduos – método respirométrico de Bartha. Norma L6 350. São Paulo: CETESB, 1990. 15p.
- _____. Bactérias heterotróficas - contagem em placas. Norma técnica nº L5.201. São Paulo: CETESB. 1996.
- [9] e [17] U. S. Environmental Protection Agency (EPA). SW-846 Manual. Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods. 1996. Disponível em <http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/sw846.htm>. Acesso em 23 ago, 2008.
- _____. Manual. Bioventing Principles and practice. vl: Bioventing Principles. EPA/540/R-95/534a. Washington, 1995.
- [10] American Public Health Association (APHA), Water Works Association (AWWA), Water Environmental Federation (WEF). Standard methods for the examination of water and wastewater. 20 ed. Washington: APHA-WEF, 1998.
- [11] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Mapa Pedológico do Estado de São Paulo. 2005. Escala 1:5.000.000. [1 mapa]. Disponível em www.ibge.gov.br-Mapas. Acesso em: 21 nov, 2005.
- [12] Fassbender, H. W.; Química de suelos. Instituto interamericano de ciencias agrícolas de la OEA. Turrialba, 1975. 385p.
- [13] Staples, C.A.; Peterson, D.R.; Parkerton, T.F.; Adams, W.J. The environmental fate of phthalate esters: a literature review. Chemosphere, v. 35, n. 4, p. 667-749, 1997.
- [14] Juneson, C.; Ward, O.P.; Singh, A. Biodegradation of bis(2-ethylhexyl)phthalate in a soil slurry-sequencing batch reactor. Process Biochemistry, v. 37, p. 305-313, 2001.
- [15] Chang, B.V.; Yang, C.M.; Cheng, C.H.; Yuan, S.Y. Biodegradation of phthalates ester by two bacteria strains. Chemosphere, v. 55, p. 533-538, 2004.
- [16] Carrara, S.M.C.M. Biorremediação de áreas contaminadas por plastificantes: caso do ftalato de di-2-etilhexila. 2003. 400 p. Tese (Doutorado)-Escola Politécnica, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2003.
- [18] Zeng, F.; Cui, K.; Li, X.; Fu, J.; Sheng, G. Biodegradation kinetics of phthalate ester by *Pseudomonas fluorescences FS1*. Process Biochemistry, 39, p. 1125-1129, 2002.



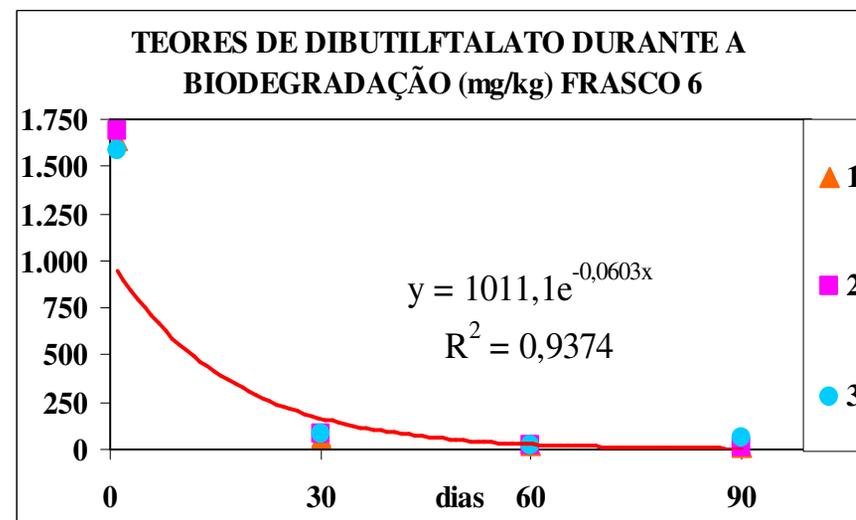
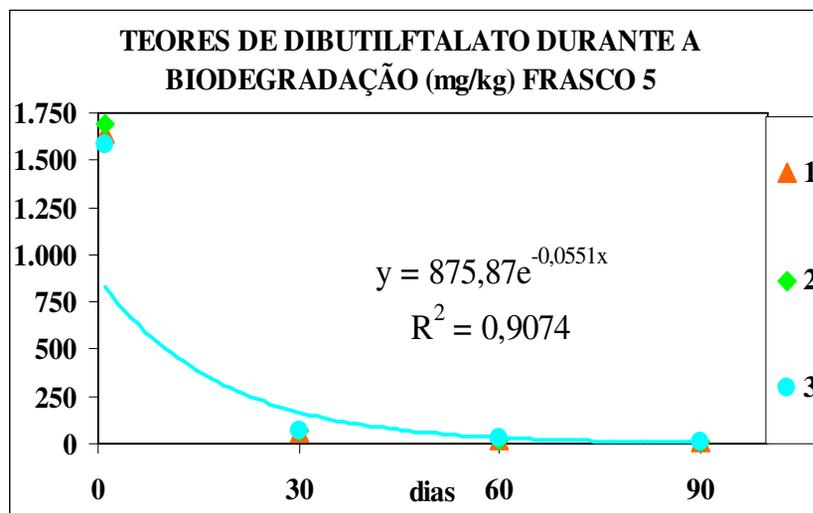
Figuras 2 e 3 - Teores de isodecanol nos Frascos 3 e 4 após 30, 60 e 90 dias (1, 2 e 3 – triplicatas)



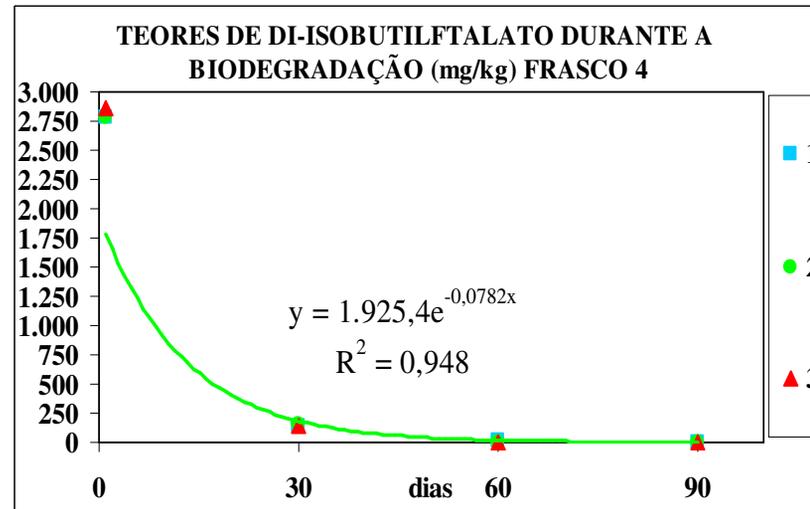
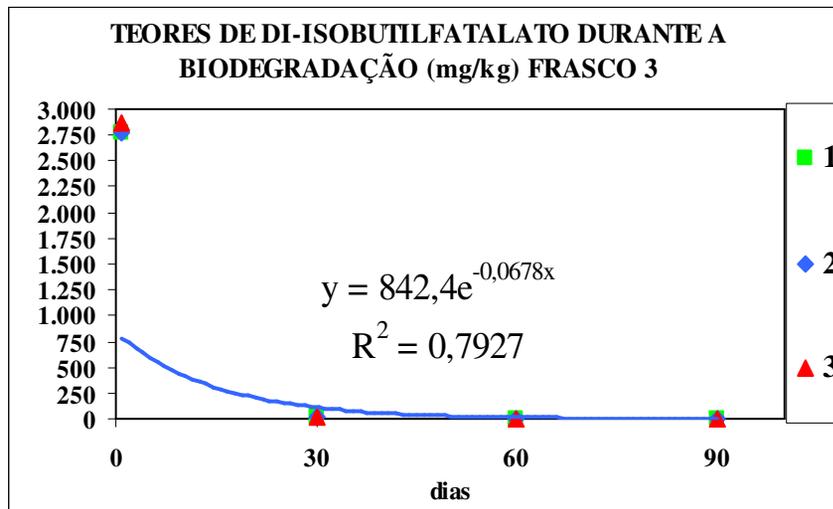
Figuras 4 e 5 - Teores de isodecanol nos Frascos 5 e 6 após 30, 60 e 90 dias (1, 2 e 3 – triplicatas)



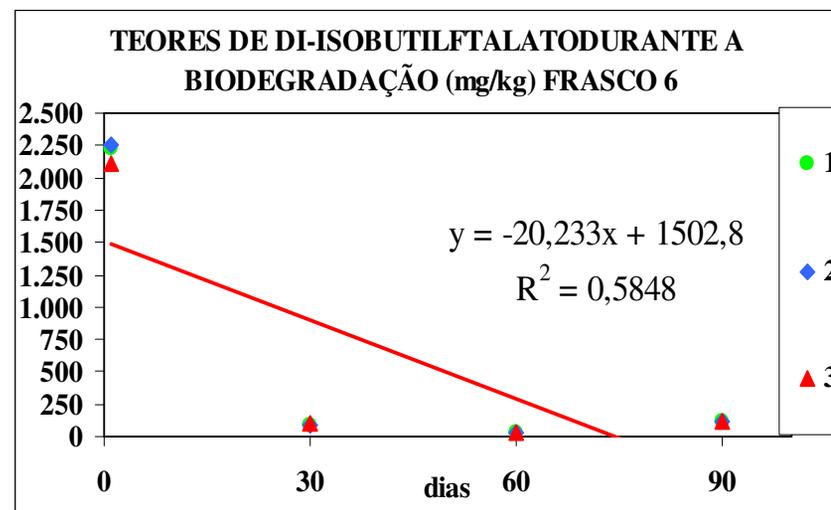
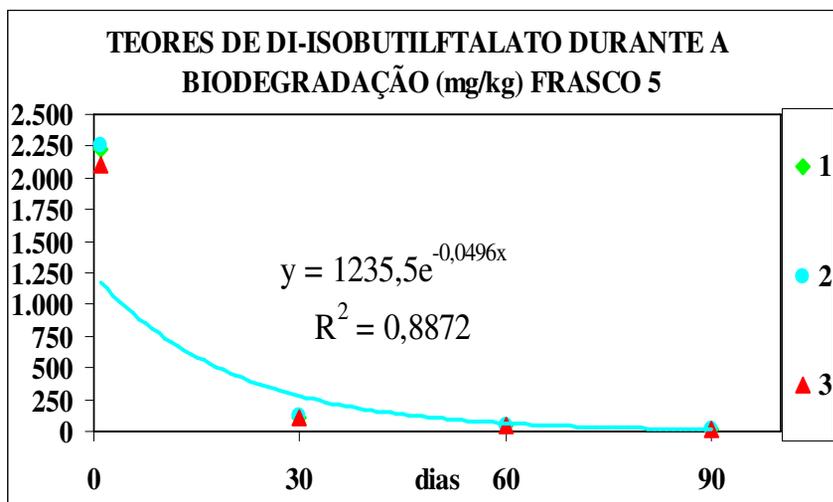
Figuras 6 e 7 - Teores de di-butil ftalato nos Frascos 3 e 4 após 30, 60 e 90 dias (1, 2 e 3 – triplicatas)



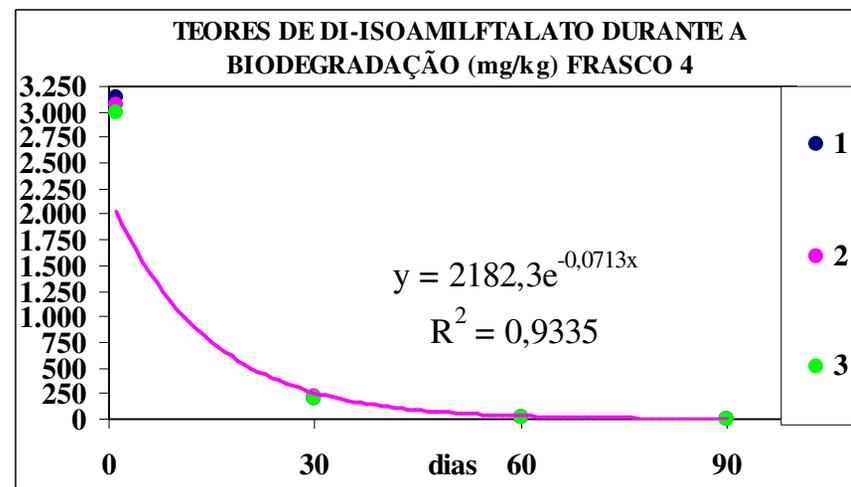
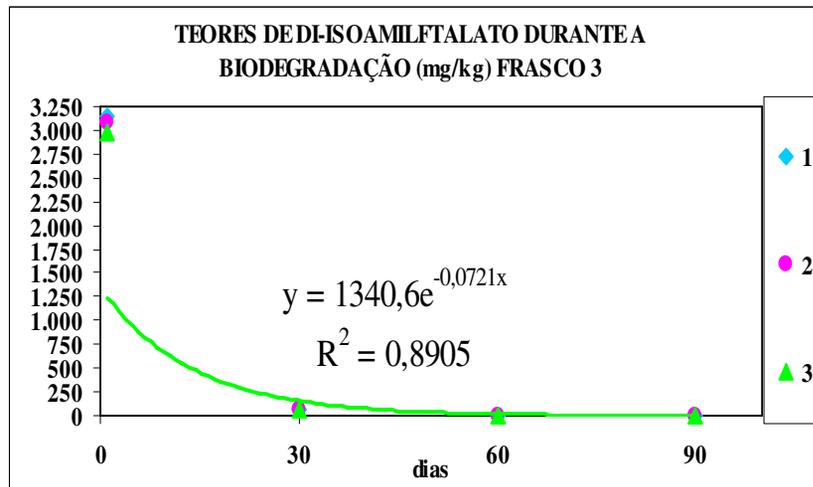
Figuras 8 e 9 - Teores de di-butil ftalato nos Frascos 5 e 6 após 30, 60 e 90 dias (1, 2 e 3 – triplicatas)



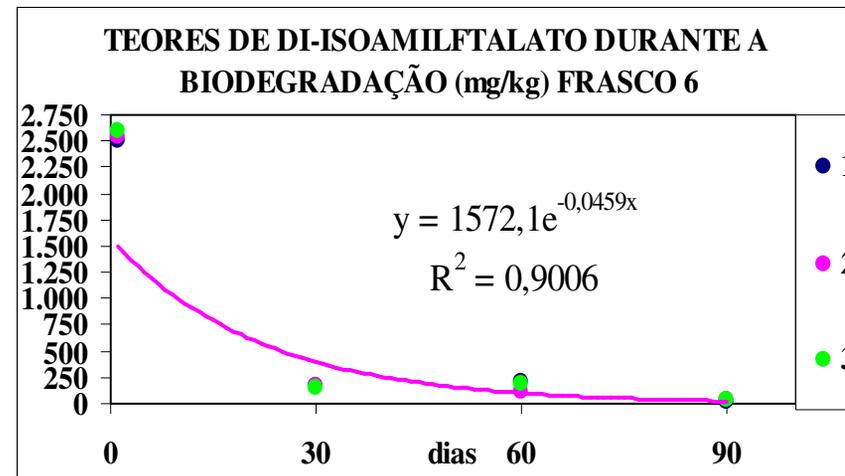
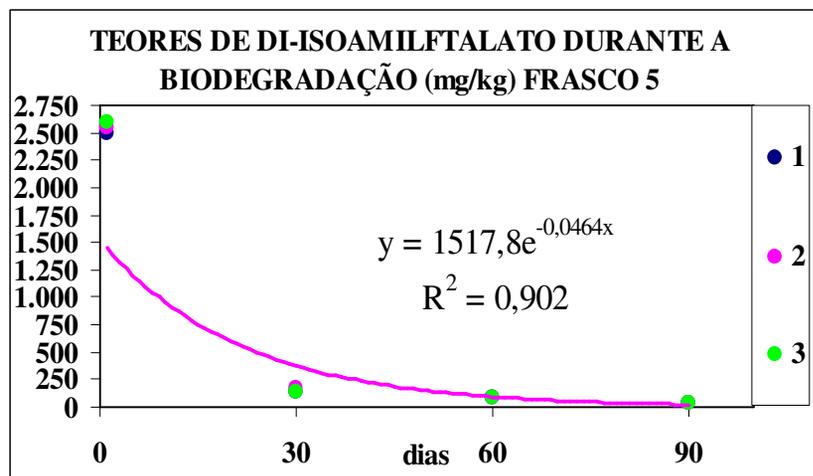
Figuras 10 e 11 - Teores de di-isobutil ftalato nos Frascos 3 e 4 após 30, 60 e 90 dias (1, 2 e 3 – triplicatas)



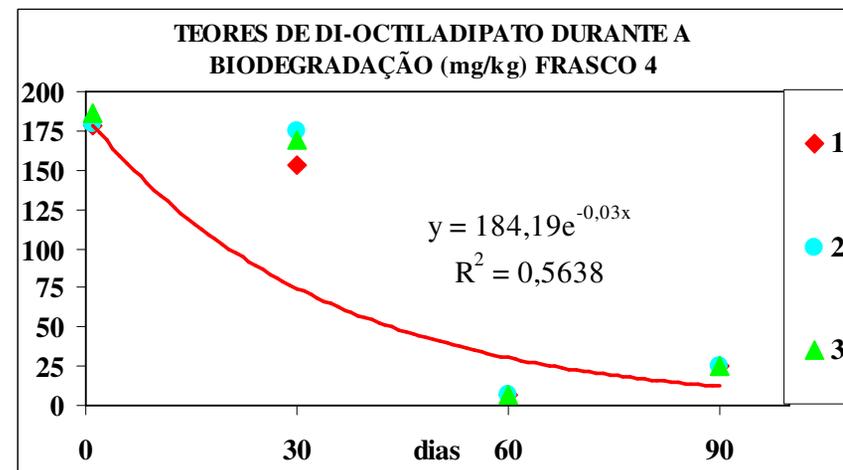
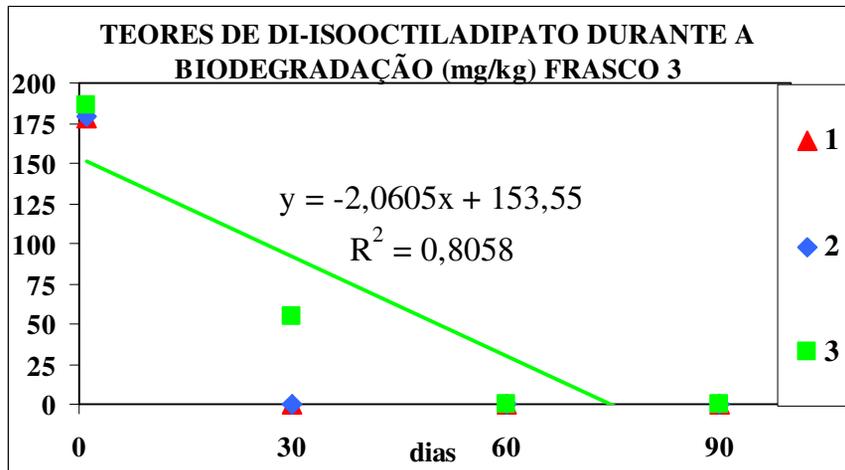
Figuras 12 e 13 - Teores de di-isobutil ftalato nos Frascos 5 e 6 após 30, 60 e 90 dias (1, 2 e 3 – triplicatas)



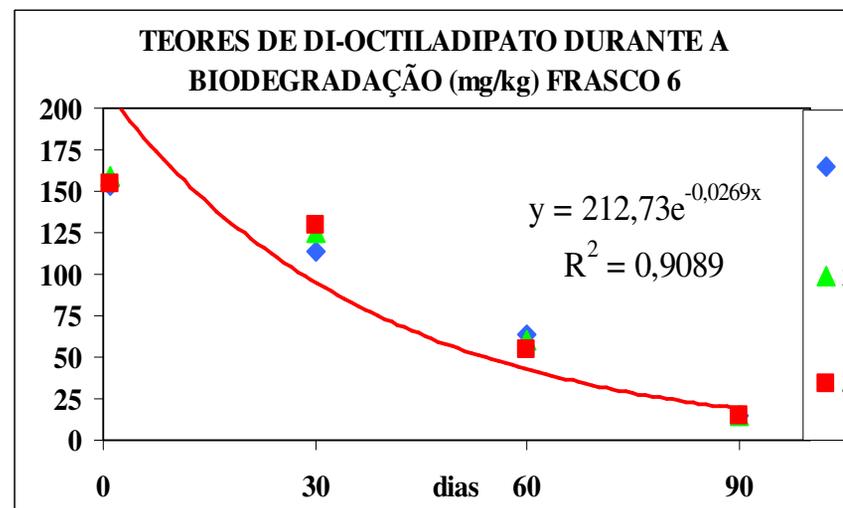
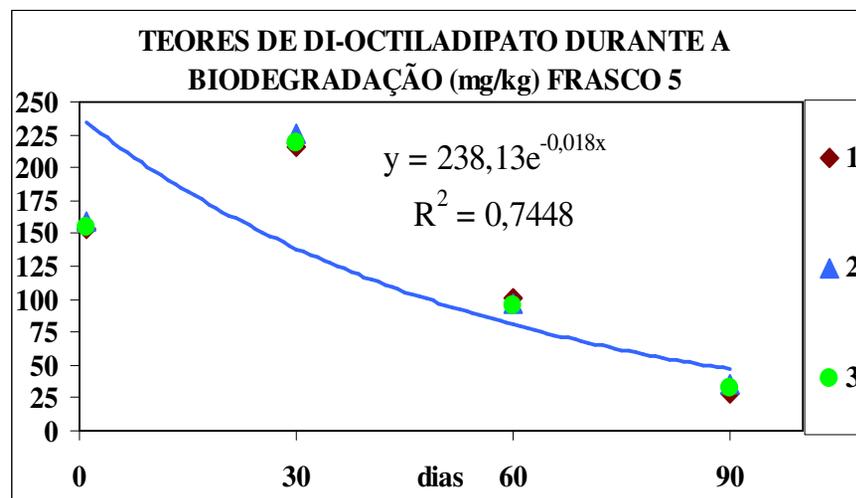
Figuras 14 e 15 - Teores de di-isoamil ftalato nos Frascos 3 e 4 após 30, 60 e 90 dias (1, 2 e 3 – triplicatas)



Figuras 16 e 17 - Teores de di-isoamil ftalato nos Frascos 5 e 6 após 30, 60 e 90 dias (1, 2 e 3 – triplicatas)



Figuras 18 e 19 - Teores de di-octiladipato nos Frascos 3 e 4 após 30, 60 e 90 dias (1, 2 e 3 – triplicatas)



Figuras 20 e 21 - Teores de di-octiladipato nos Frascos 5 e 6 após 30, 60 e 90 dias (1, 2 e 3 – triplicatas)

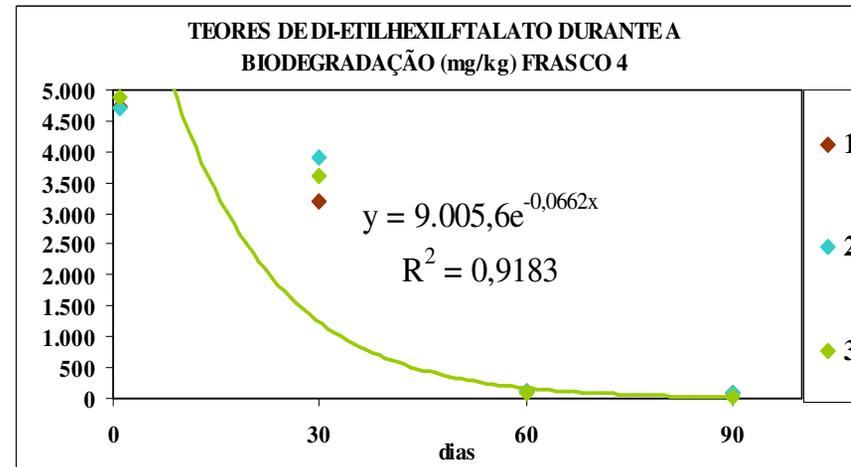
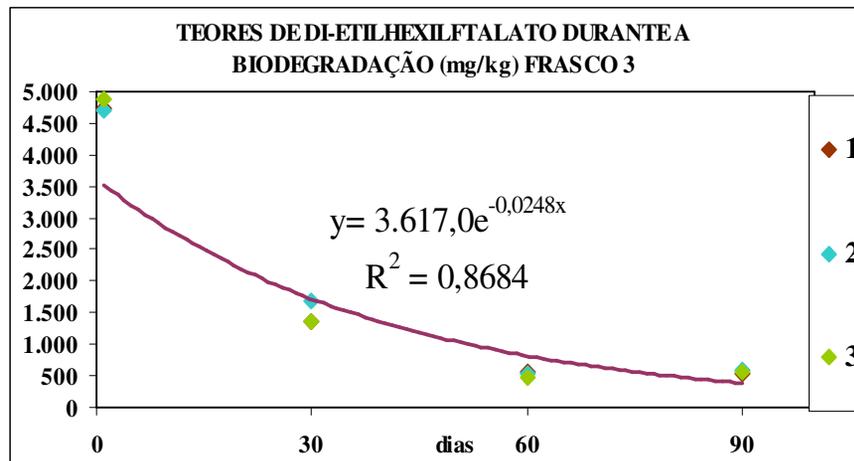


Figura 22 e 23 - Teores de di-etilhexilftalato nos Frascos 3 e 4 após 30, 60 e 90 dias (1, 2 e 3 – triplicatas)

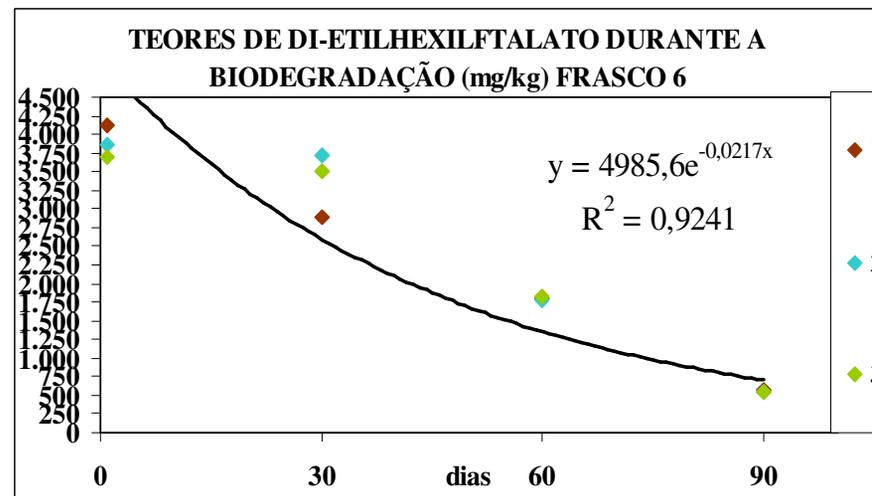
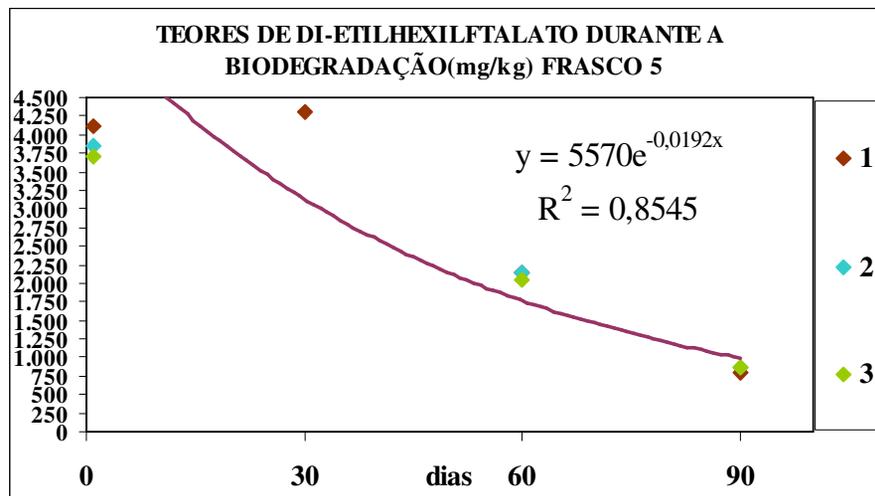


Figura 24 e 25 - Teores de di-etilhexilftalato nos Frascos 5 e 6 após 30, 60 e 90 dias (1, 2 e 3 – triplicatas)

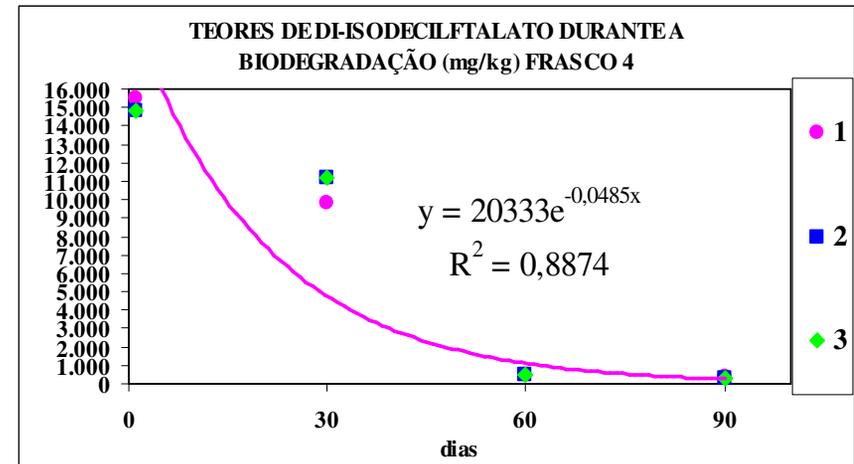
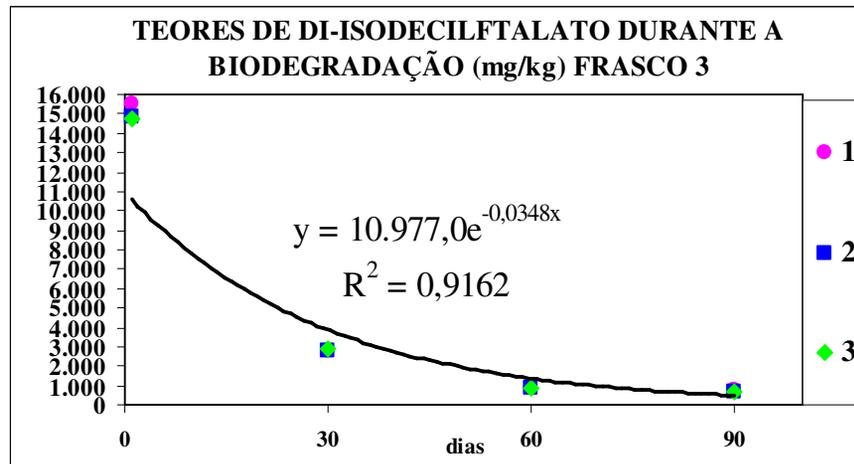


Figura 26 e 27 - Teores de di-isodecilftalato nos Frascos 3 e 4 após 30, 60 e 90 dias (1, 2 e 3 – triplicatas)

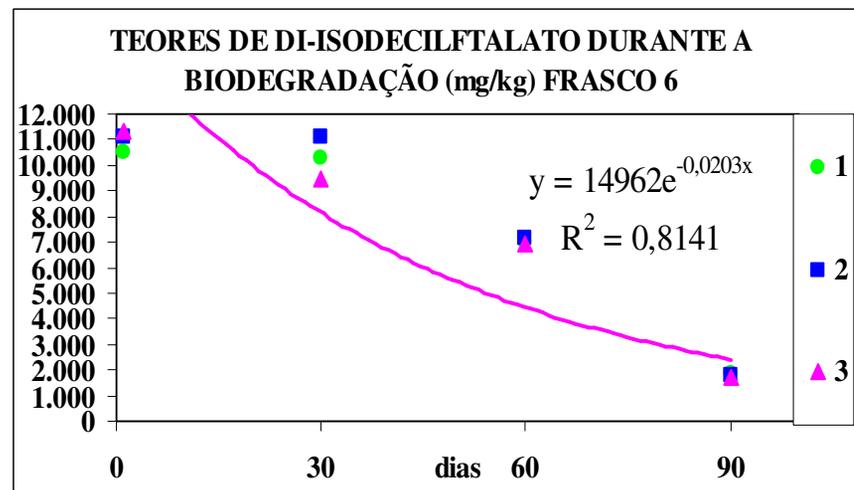
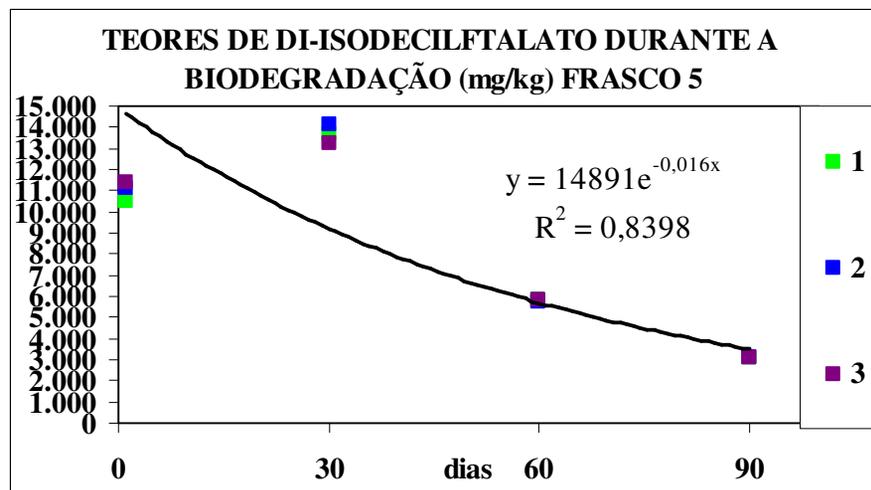


Figura 28 e 29 - Teores de di-isodecilftalato nos Frascos 5 e 6 após 30, 60 e 90 dias (1, 2 e 3 – triplicatas)